

银杏成熟花粉的形态、侧向萌发及其意义*

张仲鸣 崔克明 李正理

(北京大学生命科学学院 北京 100871)

Morphology and lateral germination of pollen in *Ginkgo biloba* and their implications in evolution

ZHANG Zhong-Ming CUI Ke-Ming LI Zheng-Li

(College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871)

Abstract The four-celled mature pollen of *Ginkgo biloba* L. just shed from the microsporangia, was round in shape and contained a very large germination area with monosulcate sulcus walled with two semicircular and nearly perpendicular parts of exine, and the pollen was coated with a compact irregular striations and spinules in parts other than the germination area. The pollen became boat-shaped and was bilaterally symmetrical when it was in air or under cold storage, but rapidly rounded off in cultural solution. Studies on early morphogenesis of the male gametophyte *in vitro* and *in vivo* revealed that the tube nucleus turned a certain degree of angle, and was followed by lateral germination, while the non-active pollen maintained its round shape. The results suggest that the internal feature of the pollen tube could be a determinant factor contributing to the expression of the characteristic events of lateral germination of the male gametophyte in *G. biloba*. Furthermore, this biologically consistent character, together with the characteristic pollen morphology, is quite different from those of other groups in gymnosperms such as *Cycas* and *Pinus*. This might be a critical character relevant to the systematic position of *G. biloba*.

Key words *Ginkgo biloba*; Pollen; Male gametophyte; Lateral germination

摘要 刚从小孢子囊中散发出的银杏 *Ginkgo biloba* L. 成熟花粉为圆球形, 具有巨大的单一萌发区。萌发区由两部分半圆形的、几近垂直的外壁围成。除萌发区外, 花粉的外壁被有较致密的不规则的纹理和小刺。当花粉在空中或冷储条件下滞留一段时间后, 即转变为两侧对称的船形, 但在培养液中又很快转变为近圆球形。离体和活体实验都表明, 银杏雄配子体萌发初期, 管核都转过了一定的角度, 并继而发生侧向萌发, 但没有活性的花粉除变为圆球形外无其他变化。这些表明, 花粉管的内部特征决定了银杏雄配子体侧向萌发的典型特征。这一稳定的生物学特性, 加上银杏花粉的特殊形态特征, 与苏铁属、松属等有明显的区别。这可能是银杏特殊系统位置的一个关键特征。

关键词 银杏; 花粉; 雄配子体; 侧向萌发

已有的资料证实, 生活银杏 *Ginkgo biloba* L. 的成熟花粉多为两侧对称的船形, 中部最宽, 端部骤尖, 具有单萌发孔(Wang *et al.* 1995, Wang 1990, Xi *et al.* 1989, Audran 1978, Johnna *et al.* 1971), 萌发区的长度几乎与整个花粉的长轴等长(Johnna *et al.* 1971); 间或有少量的为多角形或其他形状(Wang *et al.* 1995, Audran 1978), 萌发区的边缘间距距离不等(Wang *et al.* 1995, Audran 1978)。光学显微镜下, 银杏花粉的轮廓不清楚(Wang *et*

* 国家自然科学基金资助项目(35970048)。
1998-11-06 收稿, 1999-05-11 收修改稿。

al. 1995)。除萌发区外,银杏花粉的外壁由相当短的、分布不规则的纹理(striate)等组成了纹饰(Xi et al. 1989, Johnna et al. 1971)。对侏罗纪的 *Ginkgo huttoni* 的研究(Johnna et al. 1971)也证实,除了花粉和萌发区的大小和具体的形状等细节外,一些主要的特征,如纹饰、花粉轮廓不清楚等特征都非常相似。

有关银杏雄配子体的研究资料较多(Friedman 1987a, 1987b, Singh 1978, Sterling 1963, Lee 1955),最新的研究(Friedman 1987a, 1987b)表明,银杏雄配子体的萌发有其独特的一面,这一过程可分为以下几个阶段:(1)由船形到圆球形的弥散状生长阶段;(2)顶端生长阶段;(3)侧向萌发;(4)花粉管不分枝的一端膨大,雄配子体达到成熟。其中,弥散状生长被认为是种子植物范围内的唯一特例;由于缺少相关的内部结构实验证据,还无法判断侧向萌发是一种偶然现象还是银杏的一个稳定生物学特征。这些现象和特征可能暗示了银杏雄配子体发育过程的独特的一面,因此,对其中的一些现象进行更多的研究将为深入认识银杏的生物学特性和系统学地位提供有价值的资料。

1 材料和方法

1.1 压片及 Technovit 7100 塑料半薄切片的制备与观察

在北京地区,银杏花粉的成熟和传粉一般在4月中下旬。该时期内收集北京大学校园内的成熟银杏花粉,2.5%的戊二醛(0.05 mol/L, pH 7.0的磷酸缓冲液配制而成)固定,系列酒精脱水,Technovit 7100 塑料包埋,切片厚度 0.5 μm , 0.5 g/L DAPI 荧光染料染色后, Olympus BH-2 落射式荧光显微镜观察,激发光滤光片为 UG1(425 nm), 滤激发光片为 L420 nm(420 nm), 用 Lucky 400 胶卷照相。荧光观察后的切片可用考马斯兰染色,可见光下观察照相。按上述方法取不同生长时期的材料置于载玻片上,滴加 2.5%的戊二醛(配制方法同上)和 0.01 mol/L 的 DAPI 固定并染色,15 min 后压片。观察和记录结果方法同上。

1.2 扫描电镜样品制备和观察

收集从小孢子囊中散发出的花粉,采用 J. B. Zhang(1990)的方法处理,北京大学电镜室 AMRAY1910FE 扫描电镜观察。

1.3 花粉的离体培养

1.3.1 培养液的配制

根据对一些裸子植物花粉短期培养的实验条件的探索经验(Pettitt 1985),培养液中可不必加入大量的补充成分,经多次实验后,最终所采用的培养液的配方为: CaCl_2 , 1×10^{-3} mol/L; H_3BO_3 , 1×10^{-3} mol/L; 为了减少雄配子体中淀粉的荧光,以利于用 DAPI 染色后观察其中的细胞核,培养液中只加入了 0.2 mg/L 的蔗糖。最后,用 NaOH 溶液调 pH 至 5.7~5.9,灭菌后待用。

1.3.2 材料的接种及观察

4月15~25日期间,选用即将开裂的小孢子囊,用70%酒精消毒15~20 s,再用1.5%的次氯酸钠消毒30 s,剥开其中的花粉接种在盛有3 ml 培养液的具盖的称量瓶中,每瓶接种3个小孢子囊中的花粉,黑暗中培养,培养时分别在第12 h、24 h、48 h、72 h、96 h 时取材,分别用于切片和压片。

2 观察结果

2.1 成熟花粉的形态

银杏 4 细胞的雄配子体形成后, 在小孢子囊中继续发育一段时间, 外壁加厚。花粉刚散出时, 少数花粉为船形, 大部分为近圆球形(图版 I : 1)。光镜下花粉轮廓不太清楚。花粉在空气中或冷储条件下滞留一段时间后变为船形, 此时的花粉被认为具有一长线形的萌发沟(图版 I : 2); 在扫描电子显微镜下, 圆形花粉有较大的单一萌发区(图版 I : 3), 萌发区边缘的外壁呈两个半圆的形状, 两个半圆有一定的角度。尚未失水的成熟花粉或吸水后充分膨大的圆形花粉, 其两个半圆形的内壁几近相互垂直(图版 I : 3)。除萌发区外, 其它部分都有比较均一的纹饰(图版 I : 3, 4), 这些纹饰主要是条纹, 外壁仍然模糊, 一如过去和本实验中光镜下的结果。在透射电子显微镜下, 外壁上, 包括萌发孔处的外壁上, 有排列比较浓密的小刺(图版 I : 5 ~ 8), 同时还可看到, 花粉外壁纹理有明显的稀疏差异, 致使切面上凸凹不一, 个别位置上较为平坦, 有的位置上则起伏连绵(图版 I : 5 ~ 7)。萌发区边缘的外壁很不规则, 所被小刺格外密集(图版 I : 8)。当花粉在空中或 -20°C 的贮藏条件下停留一段时间后即变为两侧对称的船形(图版 I : 2), 船形花粉遇水或足够多的培养液时, 在不到 1 min 的时间内即变为图版 I : 1 所示的圆球形。

2.2 花粉在贮粉室和离体条件下的萌发

成熟花粉随风传播, 由传粉滴协助进入贮粉室中, 经过一定时间后, 管细胞膨大, 并旋转近 90° (图版 II : 1), 最初长出的花粉管与 4 细胞的轴向几乎垂直(图版 II : 2, 3), 花粉管可直接进入珠心细胞中(图版 II : 2), 有的还可经过一定的贮粉室空间后进入较远处的珠心细胞间隙(图版 II : 3), 花粉管生长过程中可反复分枝, 最终形成吸器状结构, 管核也在一定的时间内向分枝处移动(图版 II : 2)。

离体培养的结果表明, 花粉培养时的早期发育动态与自然条件下并无明显的差异。培养初期的花粉经历了由船形到圆球形的快速转变, 管细胞的体积也明显增大(图版 II : 4b), 管核与生殖细胞的距离显著增加, 仍保持同一轴向(图版 II : 4a), 有的开始转向(图版 II : 5); 开始长出花粉管时(图版 II : 6b)管核都有一定角度的转向(图版 II : 6a), 培养 3 天时, 花粉管伸长可达数毫米(图版 II : 7), 管核转过近 90° , 其长轴与原来的 4 细胞轴向几乎垂直(图版 II : 8)。但有的花粉仅保持图版 II 中 4b 的形状而不长出花粉管, 这些花粉已无活力。

3 讨 论

3.1 关于花粉形态和雄配子体生长过程的重新认识

无论对侏罗纪的银杏类花粉化石还是对生活银杏花粉的研究都表明(Wang *et al.* 1995, Wang 1990, Xi *et al.* 1989, Audran 1978, Johnna *et al.* 1971), 尽管时间跨度很大, 但所揭示的花粉形态均为两端急尖, 两侧对称的船形, 形状比较一致。从本文的实验结果看, 这一结果的取得是建立在花粉已经适应性地失水, 并且巨大萌发区已内陷的基础上。从系统演化的角度考虑, 银杏花粉拥有巨大的萌发区比单萌发沟可能更能合理地解释其系统学地位相对较低的事实, 因此, 本实验的这一结果也是合乎逻辑的。

从实验结果分析,银杏花粉的其他形态很可能是由失水的不同程度所致;花粉从小孢子囊中散出后,花粉形态的转变是对干燥环境的一种适应;花粉早期萌发中所出现的由船形到两侧对称的转变只是花粉吸水后的一种物理现象,可能并不像一种典型的萌发特征(Friedman 1987a, 1987b)。另外,从本实验中也可看到,实现从船形到圆球形转变的花粉并不都长出花粉管,表明这一形态转变可能与花粉的萌发和雄配子体的生长过程并无有机的联系。从圆球形—船形—圆球形的转变过程来说,银杏花粉巨大萌发孔的生理意义可能是在最短的时间内失去一定的水或充分吸涨,从而以最快的速度实现对干燥环境的适应或实现从游离花粉到寄生生活雄配子体的转变。

有关银杏花粉外部形态的研究表明,花粉的表面纹饰比较一致,同时,也都肯定了其轮廓不清楚的一方面(Wang *et al.* 1995, Johnna *et al.* 1971)。从本实验的情况来看,这一现象很可能是由于花粉的表面密被小刺所致。一方面,这些小刺所产生的毛细管效应阻止了花粉与封片溶液(一般都是水)的充分接触;另一方面,扫描电镜样品制备中的喷金处理也会使这些小刺形成无数折光的小亮点,从而出现图版 I 中图 3 和 4 的模糊图像,因而,在分辨率较低的光镜下,或者在扫描电镜的直视下,都很难真正看到其轮廓的边缘。在透射电镜下,以上两种情况均可避免,这样便可看到清楚的具有小刺的花粉外壁图像。

对银杏侧向萌发的初步认识最初是通过离体培养发现的(Friedman 1987a, 1987b),但缺少活体实验的支持,因而无法判断其是否是由偶然因素引起的。本实验除了在离体实验中证实了此现象外,在活体实验中也验证了这一现象的存在,而且,无论是离体还是活体都证实了这一现象的产生是与管细胞内管核的转向密切相关的。同时还看到,离体实验中不能产生花粉管的花粉不发生管核的转向,即这一过程是有活性的雄配子体发育进程中必然存在的阶段。另外,活体萌发中的花粉管可就近进入珠心细胞间隙,也可通过一段贮粉室的空间进入另一侧,说明其伸展方向与其周围的贮粉室环境没有必然的联系,这也表明,管细胞核的转向很可能是与管细胞内部的结构有关。因此,银杏雄配子体的侧向萌发应是银杏的一个典型的生物学特征。

3.2 银杏与苏铁的生殖生物学特性的比较

大量的研究认为(Gifford *et al.* 1987, Wang *et al.* 1983a, 1983b),银杏和苏铁由于都具有具鞭毛的游动精子、花粉具单萌发区、雄配子体的基本发育过程类似、花粉管均为吸器状、受精卵分裂后形成的游离核都较多等生殖生物学的共同特征,而被认为具有相近的亲缘关系。近年来的研究还表明,二者成熟精子释放时都是从近极面的花粉外壁的边缘处(而不是顶端处),这些典型的特征被认为是二者亲缘关系较近的进一步证据(Friedman 1993)。但从本实验和其它一些研究结果(Fu & Yang 1993, Friedman 1993, 1987a, 1987b)来看,银杏和苏铁的生殖生物学特性也有着较大的差异或者存在有待进一步比较研究的方面,这些主要集中在花粉形态和雄配子体发育等方面。有关雌配子体的资料则相对较少。

3.2.1 花粉形态的差异

银杏和苏铁花粉的形态均为两侧对称的船形,但银杏的为急尖,苏铁的为钝尖(Audran *et al.* 1978)。过去认为,银杏和苏铁的花粉均为单萌发槽,现在看来,银杏的应为单萌发区,苏铁的则还需进一步实验证实。银杏的成熟花粉为 4 细胞,苏铁 *Cycas revoluta* 的为 3 细胞,苏铁类的有些类群中有多个原叶细胞。银杏的花粉萌发时经历了船形到圆球形

的转变,苏铁的有待进一步研究证实。不过,从银杏花粉的形态和最初的情况来看,苏铁的情况很可能也类似,但需要证实的是,当花粉都成为近圆形时,原来所描述的苏铁和银杏的花粉差异是否会有新的变化。

另外,银杏花粉的传播为严格的风媒,胚珠接受花粉时有受粉滴出现(Singh 1978);苏铁花粉的传播则有风媒和虫媒两种方式。二者花粉壁的构造(Wang 1990, Xi *et al.* 1989, Audran 1978)及其纹饰(Audran 1978)也有较大的差异。但目前还无法将这些差异与它们的系统学地位联系起来。

3.2.2 银杏和苏铁雄配子体发育过程的差异比较

银杏和苏铁的花粉管具有不同的寄生方式,银杏花粉管的直径较苏铁的小,但分枝多,它通过这种方式尽可能地增大与珠心组织的接触面积,从而更好地完成吸收营养物质的功能;银杏的花粉管是通过珠心细胞的间隙生长的,基本上不损伤珠心细胞的结构(Friedman 1993, Choi *et al.* 1991)。苏铁的花粉管是通过分枝少但直径大的途径完成吸器功能,并且分枝是通过机械和酶的分解双重作用穿过细胞而生长的,造成了珠心组织的严重解体(Choi *et al.* 1991)。这些不同的寄生方式可能代表了原始种子植物的雄配子体由独立生活转变为寄生生活时的不同适应路线,说明二者可能是某一点上辐射进化中的不同分枝。过去曾认为(Sterling 1963, Favre-Duchartre 1956),银杏成熟雄配子体中各细胞间的相对位置关系比较复杂,其中,第二原叶细胞为圆锥状,在横切面上,不育细胞如同心圆一样包绕着第二原叶细胞,两个细胞的近极端都与花粉最初的外壁外层相接,它们的远极端都与精原细胞相接。但这种复杂的位置关系是由苏铁成熟雄配子体的相对位置关系推导来的。他们认为,苏铁的是第一原叶细胞经侵入生长穿过不育细胞。对银杏的直接研究(Zhang *et al.* 1999, Friedman 1988)表明:银杏成熟雄配子体的位置关系是由生殖细胞的斜背式环形分裂(antichlinal ringlike division)产生的。尽管目前还无法判断这一认识对苏铁类似方面研究的影响,也因而无法预料两种植物在这一方面的相似性,但银杏这一独特的细胞分裂方式和成熟雄配子体各细胞间的位置关系很可能是银杏独特系统学位置的一种反映。

如果说上述差异有可能代表了二者不同的进化路径,那么,本文所揭示的银杏雄配子体侧向萌发则可能是其独特系统学地位的一个有力证据。苏铁的雄配子体发育的基本情况尽管与银杏的类似,但其并无侧向萌发的典型特点,因此,二者在这方面的差异是显而易见的。

3.2.3 银杏和苏铁的其它生殖生物学方面的差异

从雄配子体的内部结构上看,在发育到一定阶段时,银杏精原细胞在发育过程中出现了有别于苏铁的独特纤维性颗粒体和液泡状结构(Zhang 1999, Gifford & Forst 1987, Singh 1978, Sterling 1963, Lee 1955),在时间上,这些结构是与细胞核形状的转变和生毛体的出现同时产生的结构,因而,他们可能与银杏雄配子体的侧向萌发一样,是银杏进化过程中的产物,也可能是其独特系统学地位的重要标志。

3.2.4 银杏系统学地位的探讨

长期以来,有关银杏系统学地位的探讨,特别是有关银杏雌性生殖器官上具有苞鳞-种鳞复合体这一重要性状的认识(Fu & Yang 1993),为探讨银杏的系统学地位提供了比较

新颖的观点。这一观点认为,苞鳞-种鳞复合体这种特殊形态的出现可能标志着形态演化水平的飞跃;银杏的这一结构特征较之其他类群更多保留了轴的性质,并经常出现返祖畸形变异,因此,可称之为前苞鳞-种鳞复合体,即它代表了该演化线上比较原始的类群,而又较苏铁的没有苞鳞-种鳞复合体的演化线上的植物进化。尽管银杏生殖器官的某些性状与苏铁的十分相似,但由于苞鳞-种鳞复合体的出现,标志着这一类群已远较苏铁特化,并应与所有具有苞鳞-种鳞复合体的类群在同一条演化线上。银杏大孢子叶球的式样可能代表裸子植物一种早期的原始大孢子叶球式样,是古裸子植物不甚分化的可育枝向高度压缩和变态的可育枝(苞鳞-种鳞复合体和典型的球果)演化的一种过渡式样。银杏精子的鞭毛带较苏铁的少等特征(Zhang unpublished),也从另一个侧面支持以上观点。

3.2.5 雌配子体方面的差异

银杏的雌配子体可以进行光合作用,苏铁的不具备这一特性(Friedman *et al.* 1986)。

结合本实验所揭示的银杏雄配子体发育过程和结构的特殊性,不难推理到,银杏雄配子体独特的形态特征可能是进化进程中另一个侧面的证据,代表了银杏向高度压缩和变态的可育枝演化过程中雄配子体内保留的原始性状或进化过程的遗迹。无论如何,这些结果都说明,在进化路径方面,银杏这一类群很可能已较苏铁特化。生活银杏的形态结构特征可能是其起源的特殊性、进化途径的独特性等多种因素的综合效果。当然,由于雄配子体的侧向萌发和精原细胞中的液泡状结构及纤维性颗粒体、雌配子体具光合作用能力等特征在其它种子植物中从未发现,也可能这些特征是银杏不同于苏铁起源的一些证据。

参考文献

- Audran J C, Masure E, 1978. La sculpture et l'infrastructure du sporoderme de *Ginkgo biloba* comparées à celles des enveloppes polliniques des Cycadales. *Rev Palaeobot Palynol*, 26: 363 ~ 387
- Choi Jung-sun, Friedman W, 1991. Development of the pollen tube of *Zamia furfuracea* (Zamiaceae) and its evolutionary implications. *Amer J Bot*, 78: 544 ~ 560
- Favre-Duchartre M, 1956. Contribution à l'étude de la reproduction chez le *Ginkgo biloba*. *Rev Cytol Biol Vég*, 17: 1 ~ 218
- Friedman W, Goliber T E, 1986. Photosynthesis in the female gametophyte of *Ginkgo biloba*. *Amer J Bot*, 73: 1261 ~ 1266
- Friedman W, 1987a. Growth and development of the male gametophyte of *Ginkgo biloba* within the ovule (*in vivo*). *Amer J Bot*, 74: 1797 ~ 1815
- Friedman W, 1987b. Morphogenesis and experimental aspects of growth and development of the male gametophyte of *Ginkgo biloba in vitro*. *Amer J Bot*, 74: 1816 ~ 1830
- Friedman W, 1993. The evolutionary history of the seed plant male gametophyte. *Trends in Ecology and Evolution*, 8: 15 ~ 20
- Fu D-Z(傅德志), Yang Q-E(杨亲二), 1993. A new morphological interpretation of the female reproductive organs in *Ginkgo biloba* L., with a phylogenetic consideration on gymnosperms. *Acta Phytotax Sin(植物分类学报)*, 31(3): 294 ~ 296
- Gifford E M, Foster A S, 1987. *Morphology and Evolution of Vascular Plants* (3rd ed). New York: W H Freeman and Company
- Johanna H A, Van Konijnenburg-Van Cittert, 1971. *In situ* gymnosperm pollen from the middle Jurassic of Yorkshire. *Acta Bot Neerl*, 20: 1 ~ 77
- Lee C-L(李正理), 1955. Fertilization in *Ginkgo biloba*. *Bot Gaz*, 117: 97 ~ 100
- Singh H, 1978. *Embryology of Gymnosperms*. Berlin: Gebruder Borntraeger

- Sterling C, 1963. Structure of the male gametophyte in gymnosperms. *Bio Rev*, 38:167 ~ 203
- Pettitt J M, 1985. Pollen tube development and characteristics of the protein emission in conifers. *Ann Bot*, 56:379 ~ 397
- Wang F-H(王伏雄), Chen Z-K(陈祖铿), 1983. Some questions on the phylogenesis of gymnosperms. *Chinese Bulletin of Botany(植物学通报)*, 1: 1 ~ 4
- Wang F-H(王伏雄), Chen Z-K(陈祖铿), 1983. A contribution to the embryology of *Ginkgo* with a discussion of the affinity of the Ginkgoales. *Acta Bot Sin(植物学报)*, 25: 199 ~ 207
- Wang F-H(王伏雄), 1990. Microsporogenesis in *Cycas* and *Ginkgo*. In: Blackmore S. & Knox R.B. eds. *Microspores: Evolution and Ontogeny*. New York: Academic Press. 147 ~ 155
- Wang F-H(王伏雄), Qian N-F(钱南芬), Zhang Y-L(张玉龙) *et al.*, 1995. *Pollen Flora in China*. 2nd ed. Beijing: Science Press. 19
- Xi Y-Z(席以珍), Wang F-H(王伏雄), 1989. Pollen exine ultrastructure of extant Chinese gymnosperms. *Cathaya*, 1:119 ~ 142
- Zhang J-B(章静波), 1990. *Practical Methods and Technologies in Cell Biology*. Beijing: Higher Education Press. 203 ~ 207
- Zhang Z-M(张仲鸣), Ji C-J(吉成均), Yang X(杨雄) *et al.*, 1999. Cell divisions during microsporogenesis and development of the male Gametophyte in *Ginkgo biloba*. *Acta Bot Sin(植物学报)*. 41(5):479 ~ 483

图版说明 Explanation of plates

ex. 花粉外壁; nu. 珠心组织; pch. 贮粉室; pt. 花粉管; su. 萌发区; tn. 管核

图版 I 银杏花粉的形态 1. 刚从小孢子囊中散发出的花粉($\times 380$); 2. 滞留在空中或冷储条件下的船形花粉($\times 380$); 3. 花粉扫描电镜照片, 示刚从小孢子囊中散发出的花粉的萌发孔和纹饰; 4. 部分纹饰的放大($\times 17380$); 5 ~ 7. 花粉的透射电镜照片, 示花粉表面的侧面观及外壁上的刺状突起(5. $\times 13000$; 6. $\times 24000$; 7. $\times 45000$); 8. 扫描电镜照片, 示萌发孔处外壁上的刺状突起($\times 24000$)。

图版 II 活体和离体条件下银杏花粉的萌发 1. 贮粉室中的萌发花粉, 示管核已较花粉内的多细胞轴向转过近 90° ($\times 750$); 2, 3. 通过贮粉室的纵切, 示花粉管直接(见 2)或通过一定的贮粉室空间后(见 3)伸入到珠心组织的细胞空间, 最初一段的伸长方向都与花粉内的多细胞轴向几乎垂直($\times 480$); 4, 6. 培养初期的圆形花粉(见 4b)和花粉管刚萌发时的相差(见 6b)及荧光图象(见 4a, 6a), 分别显示管核与其它细胞核的距离增大(但 4 个核仍在同一轴向)及管核已偏离原来的轴向($\times 600$); 5. 切片显示管核已经转向($\times 1450$); 7. 培养三天时的花粉管的外形($\times 600$); 8. 培养三天时的雄配子体, 示管核与其他细胞的轴几乎垂直($\times 1450$)。

ex. exine; nu. nucellus; pch. pollen chamber; pt. pollen tube; su. sulcus; tn. tube nucleus.

Plate I LM, SEM photographs of pollen grains and the exine ultrastructure of pollen grains of *Ginkgo biloba* under TEM 1. Pollen just shed from microsporangia($\times 380$); 2, 6. Boat-shaped and bilateral pollen in air or under cold storage condition($\times 380$); 3. SEM photograph of pollen grain, showing the sulcus and ornamentation; 4. Enlarged image of the ornamentation($\times 17380$); 5 ~ 7. The pollen wall structure of *Ginkgo* under TEM, showing the sharp spinules on the exine surface(5. $\times 13000$; 6. $\times 24000$; 7. $\times 45000$); 8. TEM photograph, showing the spinules on the exine near the sulcus($\times 24000$).

Plate II The germination of pollen of *Ginkgo biloba* *in vitro* and *in vivo* 1. Initiation of male gametophytes in pollen chamber. Note that the tube nucleus was almost perpendicular to the original axis of cells within the pollen grain($\times 750$); 2, 3. Longitudinal sections through pollen chambers, showing that the pollen tubes penetrating nucellus directly (see 2) or through the space of pollen chamber(see 3) were almost perpendicular to the original axis of the row of cells within the pollen grain($\times 480$); 4, 6. Epi-fluorescence staining with DAPI(see 4a, 6a) and phase-contrast(see 4b, 6b) images of male gametophyte at early stage *in vitro*, showing that the tube nucleus was far away from its original axis(see 6a, 6b)($\times 600$); 5. Section of pollen at early stage of germination, showing the angle deviation of tube nucleus($\times 1450$); 7. Phase-contrast image of male gametophyte after culturing for three days($\times 600$); 8. Epi-fluorescence image stained with DAPI, showing the tube nucleus was almost perpendicular to the original axis of the other cells($\times 1450$).



